

ПРОТОЛИТИЧЕСКИЕ РАВНОВЕСИЯ 6-АМИНОФЛУОРЕСЦЕИНА В ВОДЕ И В СМЕСИ ВОДА-ЭТАНОЛ С МАССОВОЙ ДОЛЕЙ СПИРТА 50%

Чейнеш Т. А., Водозазкая Н. А.

Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина

chetanol@yandex.ru

В настоящее время гидроксиксантоновые красители широко распространены в химии и сопредельных науках. Особое место среди этих соединений занимают аминифлуоресцеины, которые содержат легко модифицируемые NH_2 -группы и поэтому часто применяются как флуоресцентные метки в биологии и медицине.

Благодаря наличию в молекулах подобных красителей близких по силе гидроксильных, карбоксильных и аминогрупп, эти соединения способны к кислотно-основным и таутомерным превращениям, и их свойства, в том числе спектральные, существенно зависят от рН среды, а также ее полярности и других характеристик. Сложность ионных равновесий подобных красителей существенно затрудняет изучение их кислотно-основных свойств, поэтому данный вопрос сравнительно мало освещен в литературе. На основании вышесказанного представляется важным исследование протолитических свойств аминифлуоресцеиновых индикаторов в различных средах.

Нами изучены кислотно-основные свойства и таутомерные равновесия 6-аминифлуоресцеина (6-АФ) в воде и водно-этанольной смеси (массовая доля спирта 50%). Структура дианиона (R^{2-}) 6-АФ представлена на рис. 1.

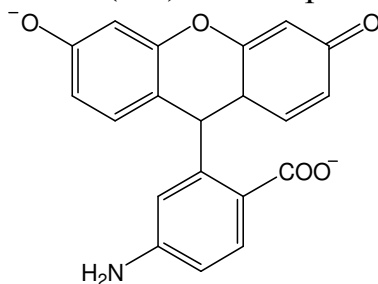
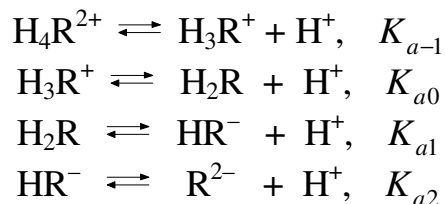


Рис. 1. Дианион 6-аминифлуоресцеина

Схему диссоциации изученного индикатора можно представить следующим образом (в отличие от флуоресцеина для 6-АФ характерно четыре равновесия):



Константы диссоциации 6-АФ определяли при ионной силе (I) 0.05 моль/л (NaCl + компоненты буферного раствора) с помощью спектрофотометрического метода с одновременным контролем рН среды. В

водно-этанольной смеси с массовой долей спирта 50% значения $p a_{H^+}^*$ оценивали, внося поправку в инструментальное значение, $pH_{инстр.}$: $p a_{H^+}^* = pH_{инстр.} - 0.20$ [1]. Данные обрабатывали при постоянных значениях концентрации 6-АФ и длине поглощающего слоя с применением компьютерной программы CLINP [2]. Для расчета значений pK_a в воде использовали оптические плотности 21 раствора (в области pH 1.34 – 9.08) в интервале длин волн (λ) 410 – 510 нм через 5 нм. В случае смеси вода-этанол расчет величин pK_{a1} и pK_{a2} проводили в интервале $p a_{H^+}^*$ 6.43 – 8.63 и длин волн 415 – 515 нм, а pK_{a0} – при $p a_{H^+}^*$ от 1.19 до 2.63 в том же диапазоне λ .

Полученные значения pK_a представлены в табл.1. На рис.2 приведены спектры поглощения водного раствора 6-АФ.

Табл. 1. Значения pK_a при $I=0.05$ моль/л 6-АФ в воде и смеси вода-этанол

Растворитель	pK_{a-1}	pK_{a0}	pK_{a1}	pK_{a2}
Вода	1.30 ± 0.14	2.05 ± 0.04	5.39 ± 0.03	6.53 ± 0.02
Водно-этанольная смесь (массовая доля спирта 50%)	— ¹	0.99 ± 0.06	7.12 ± 0.04	7.82 ± 0.02

¹ Равновесие сильно смещено в кислую область.

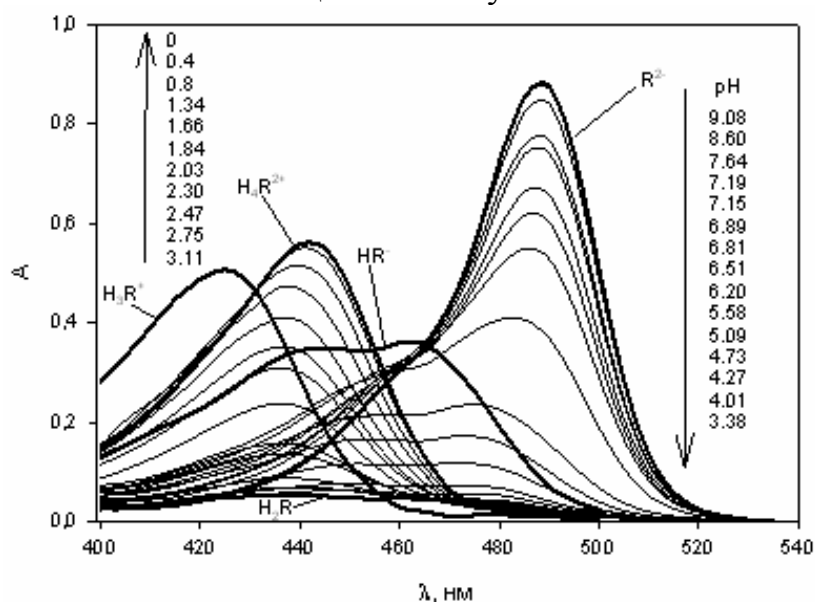


Рис. 2. Спектры поглощения растворов 6-АФ в воде при различных pH и индивидуальных форм красителя

В докладе детально обсуждаются изменения значений pK_a и спектральных характеристик при переходе от воды к водно-этанольной смеси, а также таутомерные равновесия форм 6-АФ. Отмечены особенности влияния аминогруппы на протолитические свойства изученного красителя.

[1] Бейтс Р. Определение pH. – Л.: Химия, 1972. – 400с.

[2] <http://www-chemo.univer.kharkov.ua/kholin/clinp.html>.